



(11) **EP 3 620 773 A1**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:  
**11.03.2020 Patentblatt 2020/11**

(51) Int Cl.:  
**G01N 1/36 (2006.01)** **G01N 1/30 (2006.01)**  
**G02B 21/34 (2006.01)** **G01N 1/28 (2006.01)**

(21) Anmeldenummer: **18192845.8**

(22) Anmeldetag: **06.09.2018**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR**  
Benannte Erstreckungsstaaten:  
**BA ME**  
Benannte Validierungsstaaten:  
**KH MA MD TN**

- **Hörnig, Gabriele**  
**90766 Fürth (DE)**
- **Marquardt, Gaby**  
**91353 Hausen (DE)**
- **Seidel, Daniela**  
**91083 Baiersdorf (DE)**

(71) Anmelder: **Siemens Healthcare Diagnostics Inc.**  
**Tarrytown, NY 10591 (US)**

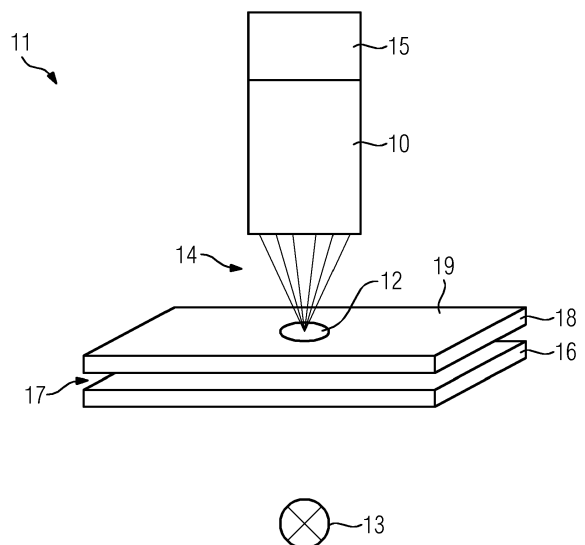
(74) Vertreter: **Castorph, Simon Johannes**  
**Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH**  
**P.O. Box 22 16 34**  
**80506 München (DE)**

(72) Erfinder:  
• **Engel, Thomas**  
**73432 Aalen (DE)**

(54) **VERFAHREN ZUR FIXIERUNG EINES DÜNNFILMMATERIALS AUF EINEM TRÄGERGLAS**

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Fixierung eines Dünnschichtmaterials (18) auf einer planen Oberfläche eines Trägerglases (16) für eine Mikroskopievorrichtung mittels einer Flüssigkeit. Das Verfahren umfassend die folgenden Schritte: Aufbringen einer Flüssigkeitsmenge auf die plane Oberfläche des Trägerglases (16), Aufbringen des Dünnschichtmaterials (18) auf die wenigstens teilweise, bevorzugt vollständig mit Flüssigkeit benetzte Oberfläche des Trägerglases (16), Aufbringen einer mikroskopisch zu untersuchenden Probe auf die der mit Flüssigkeit benetzte Oberfläche des Trägerglases (16) abgewandten Oberfläche des Dünnschichtmaterials (18), wobei die der mit Flüssigkeit benetzten Oberfläche des Trägerglases (16) abgewandte Oberfläche des Dünnschichtmaterials (18) hydrophil ist.

FIG 2



**EP 3 620 773 A1**

## Beschreibung

**[0001]** Die Erfindung liegt auf dem Gebiet der automatischen Analyser und betrifft ein Verfahren für einen Hämatologie-Analyser zum Analysieren von Zellen in einer Probe unter Verwendung einer Mikroskopiervorrichtung.

**[0002]** Zur automatisierten Analyse von Zellen werden so genannte "automated cell counters" (Automatisierte Zellzählgeräte) mit zunehmendem Erfolg angewendet. Beispiele hierfür sind die Advia 2120, Sysmex XE-2100 sowie Cobas m 511 Systeme. Diese automatisierten Geräte stellen, abgesehen von ihrer hohen Durchsatzzahl, einige Vorteile bereit, wie beispielsweise hohe Objektivität (keine Variabilität abhängig vom Beobachter), Elimination statistischer Variationen, die üblicherweise mit einer manuellen Zählung verbunden sind (Zählung hoher Zellzahlen), sowie die Bestimmung zahlreicher Parameter, die bei einer manuellen Auszählung nicht verfügbar wären und, wie angesprochen eine effizientere und kosteneffektivere Handhabung. Einige dieser Geräte können 120 bis 150 Patientenproben pro Stunde bearbeiten.

**[0003]** Die technischen Prinzipien der automatischen Einzelzellzählung wie z.B. in den Advia 2120 und Sysmex XE-2100 Geräten beruhen meist entweder auf einer Impedanz- (Widerstands-) Messung oder auf einem optischen System (Streulicht- bzw. Absorptionsmessung). Weiter sind bildgebende Systeme etabliert, die z.B. Zellen eines Blutausstrichs automatisiert abbilden und bewerten, wie z.B. in den Cobas m 511, CellaVision DM96 und CellaVision 1200 Geräten.

**[0004]** Beim Impedanzverfahren erfolgt die Zellzählung sowie deren Größenbestimmung auf Grundlage des Nachweises und der Messung von Veränderungen in der elektrischen Leitfähigkeit (Widerstand), die durch ein Teilchen verursacht werden, das sich durch eine kleine Öffnung hindurchbewegt. Teilchen, wie beispielsweise Blutzellen, sind selbst nicht leitend, werden jedoch in einem elektrisch leitenden Verdünnungsmittel suspendiert. Wenn eine derartige Suspension von Zellen durch eine Öffnung hindurchgeleitet wird, nimmt bei Durchgang einer einzelnen individuellen Zelle die Impedanz (Widerstand) des elektrischen Weges zwischen den beiden Elektroden, die sich auf jeder Seite der Öffnung befinden, vorübergehend zu.

**[0005]** Im Gegensatz zum Impedanzverfahren umfasst das optische Verfahren das Durchleiten eines Laserlichtstrahles oder eines LED Lichtstrahls durch eine verdünnte Blutprobe, die in einem kontinuierlichen Strom von dem Laserstrahl oder dem LED Lichtstrahl erfasst wird. Der entsprechende Lichtstrahl kann dabei z.B. mittels eines Lichtwellenleiters zur Durchflusszelle geleitet werden. Jede Zelle, die durch die Erfassungszone der Durchflusszelle hindurchtritt, streut das fokussierte Licht. Das gestreute Licht wird dann durch einen Fotodetektor nachgewiesen und in einen elektrischen Impuls umgewandelt. Die hier erzeugte Anzahl von Impulsen ist direkt zur Zellanzahl proportional, die durch die Erfassungszone in einer speziellen Zeitspanne hindurchtritt.

**[0006]** Bei den optischen Verfahren wird die Lichtstreuung der einzelnen Zelle, die durch die Erfassungszone hindurchtritt, in verschiedenen Winkeln gemessen. Hierdurch wird das Streuverhalten der jeweiligen Zelle für die optische Strahlung erfasst, das Rückschlüsse auf z.B. die Zellstruktur, Form und Reflexionsvermögen erlaubt. Dieses Streuverhalten kann dazu verwendet werden, verschiedene Arten von Blutzellen zu differenzieren und die abgeleiteten Parameter zur Diagnose von Abweichungen der Blutzellen dieser Probe von einer Norm, die z.B. aus einer Vielzahl von als normal klassifizierten Referenzproben gewonnen wurde, zu verwenden.

**[0007]** Für die Anfertigung von Blutausstrichen zur Differenzialdiagnostik wird bisher üblicherweise eine Blutprobe auf einem Glasobjektträger ausgestrichen und manuell oder automatisiert mikroskopisch ausgewertet. Glasobjektträger verursachen hohe Kosten in der Herstellung. Weiter ist Glas sehr zerbrechlich und es kann beim Zerbrechen zur Entstehung scharfer Kanten kommen, was zu einem erhöhten Verletzungsrisiko des Labpersonal führt. Gerade im Labor sind Schnittverletzungen besonders gefährlich, weil dadurch die natürliche Barriere Schicht der Haut beschädigt wird und ein Eindringen von Pathogenen möglich wird. Dadurch steigt das Risiko einer Infektion mit Krankheitserregern deutlich an.

**[0008]** Glasobjektträger lassen sich durch Dünnschichtmaterialien wie z.B. Folien als Trägermaterial für die Ausbringung von Blut und dessen Mikroskopie ersetzen. Die Verwendung eines Dünnschichtmaterials wie z.B. einer Folie als Trägermaterial für die Ausbringung von Blut und dessen Mikroskopie bringt jedoch das Problem mit sich, dass Folie im Vergleich zu Glas sehr flexibel und biegsam ist und dadurch bedingt keine hohe Planarität aufweist. Für die Mikroskopie ist jedoch eine hohe Planarität erforderlich, um eine gute Aufnahmen der Zellen zu ermöglichen. Insbesondere in der automatisierten Mikroskopie ist eine hohe Planarität auch für die exakte Ausrichtung der Probe wichtig um qualitativ hochwertige Bilder zu erhalten.

**[0009]** Eine der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe ist daher das Bereitstellen einer Vorrichtung und eines Verfahrens, mittels dem eine Planarisierung des Dünnschichtmaterials erreicht werden kann. Da heutige hochauflösende Mikroskope für die automatisierte Bewertung von Zellen in Blutausstrichen mit hoher numerischer Apertur arbeiten und damit mit Immersion zwischen Objektträger und Objektiv und gegebenenfalls auch zwischen Objektträger und Kondensator, ist die Einschubdicke eines Folienobjektträgers inklusive einer Vorrichtung zur Planarisierung auf eine Dicke von etwa 1.4 mm begrenzt. Somit steht einer Vorrichtung und einem Verfahren, mittels dem eine Planarisierung des Dünnschichtmaterials erfolgt, nur ein sehr begrenzter Raum hinsichtlich dieser Einschubdicke zur Verfügung.

**[0010]** Die Aufgabe wird von einem erfindungsgemäßen Verfahren, einer entsprechenden Verwendung eines Verfahrens sowie eines Analyzers gemäß der unab-

hängigen Patentansprüche gelöst. Vorteilhafte Weiterbildungen der Erfindung sind insbesondere auch durch die Unteransprüche gegeben.

**[0011]** Die Erfindung geht von der Idee aus, Dünnschichtmaterial mit Hilfe einer geringen Menge Wasser auf einem transparenten Träger mit guten optischen Eigenschaften und einer hohen Planarität temporär zu fixieren. Für die Ausbringung von Blut auf dem Dünnschichtmaterial ist es zudem wichtig, dass die entsprechende Oberfläche, auf die das Blut aufgebracht werden soll, eine hydrophile Oberfläche ist.

**[0012]** Der Gegenstand der Erfindung umfasst insbesondere ein Verfahren zur Fixierung eines Dünnschichtmaterials auf einer planen Oberfläche eines Trägerglases für eine Mikroskopiervorrichtung mittels einer Flüssigkeit, das Verfahren umfassend die folgenden Schritte: Aufbringen einer Flüssigkeitsmenge auf die plane Oberfläche des Trägerglases, Aufbringen des Dünnschichtmaterials auf die wenigstens teilweise, bevorzugt vollständig mit Flüssigkeit benetzten Oberfläche des Trägerglases, Aufbringen einer mikroskopisch zu untersuchenden Probe auf die der mit Flüssigkeit benetzte Oberfläche des Trägerglases abgewandten Oberfläche des Dünnschichtmaterials, wobei die der mit Flüssigkeit benetzten Oberfläche des Trägerglases abgewandte Oberfläche des Dünnschichtmaterials hydrophil ist.

**[0013]** Das erfindungsgemäße Verfahren hat den Vorteil, dass eine Planarisierung des Dünnschichtmaterials mit besonders einfachen Mitteln zuverlässig erreicht werden kann. Durch die damit mögliche Verwendung von Dünnschichtmaterial wie z.B. Folie lassen sich die Kosten für die Anfertigung eines Blutausstriches deutlich reduzieren. Ein Folienobjektträger ist in der Herstellung wesentlich günstiger als ein Glasobjektträger. Weiter ist ein Folienobjektträger bis zu 10-fach dünner als Glas. Dadurch ist es möglich eine Kassette mit Objektträgern herzustellen, die bei gleicher Größe, bis zu 10-mal mehr Objektträger beinhaltet, wodurch mehr Objektträger gleichzeitig in ein entsprechendes Gerät geladen werden können. Weiter wird bei der Verwendung von Folienobjektträgern weniger Abfall produziert als bei der Verwendung von Glasobjektträgern. Darüber hinaus ist ein Dünnschichtmaterial wie z.B. eine Folie im Vergleich zu Glas nicht zerbrechlich wodurch das Risiko einer Verletzung durch scharfe Kanten deutlich reduziert wird.

**[0014]** Bei dem Trägerglas handelt es sich bevorzugt um einen Objektträger, der im Gegensatz zu herkömmlichen Objektträgern aus bruchstärkerem Glas besteht. Bevorzugt weist das Trägerglas eine hohe Kantengüte und/oder eine hohe Stabilität auf. Eine hohe Kantengüte kann die Stabilität des Glases erhöhen. Eine hohe Stabilität des Trägerglases ist insbesondere vorteilhaft für die mehrfache Benutzung, beziehungsweise die wiederholte Verwendung in einem automatischen Analyzer.

**[0015]** Besonders bevorzugt besteht das Trägerglas aus einem Corning Gorilla™ Glas von Corning Incorporated und/oder einem chemisch verstärktem Aluminosilikatglas wie z.B. Xensation™ Cover von SCHOTT Tech-

nical Glass Solutions GmbH.

**[0016]** In einer vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens weist das Verfahren weiter den folgenden Schritt auf: Mikroskopie der auf der Oberfläche des Dünnschichtmaterials aufgetragenen Probe. Dies hat den Vorteil, dass ein entsprechendes Bild der mikroskopischen Struktur der Probe erhalten wird.

**[0017]** In einer vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens weist das Verfahren weiter die folgenden Schritte auf: Entfernen des Dünnschichtmaterials mit der aufgetragenen Probe von dem Trägerglas, Reinigung und Trocknung der mit Flüssigkeit benetzten Oberfläche des Trägerglases, Wiederverwendung des Trägerglases. Bevorzugt erfolgt die Reinigung dabei mit Luft. Dies hat den Vorteil, dass das Trägerglas wiederverwendet werden kann. Dies kann zu erheblichen Kostenvorteilen führen und vermeidet darüber hinaus unnötige Umweltverschmutzungen und reduziert den Gesamtenergiebedarf.

**[0018]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens beträgt die Gesamtdicke des Trägerglases mit aufgetragener Flüssigkeit, Dünnschichtmaterial und Probe weniger als 1,4 mm, wobei die Gesamtdicke des Trägerglases mit aufgetragener Flüssigkeit und Dünnschichtmaterial ohne Probe besonders bevorzugt 1 mm beträgt. Dies hat den Vorteil, dass eine Verwendung des Verfahrens in einem hochauflösenden Mikroskop für die automatisierte Bewertung von Zellen in Blutausstrichen mit hoher numerischer Apertur und mit Immersion zwischen Objektträger und Objektiv und gegebenenfalls auch zwischen Objektträger und Kondensator geeignet ist, da die Gesamtdicke kleiner oder gleich der maximalen möglichen Einschubdicke von 1,4 mm ist.

**[0019]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist das Dünnschichtmaterial eine biegsame Folie.

**[0020]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist die Flüssigkeit im von der Mikroskopiervorrichtung genutzten Spektralbereich überwiegend transparent oder durchsichtig, besonders bevorzugt transparent oder durchsichtig. Überwiegend transparent oder durchsichtig bedeutet, dass man Dahinterliegendes relativ klar erkennen kann, das Material also für Strahlung des jeweiligen Spektralbereichs, bevorzugt z.B. des sichtbaren Spektrums, weitgehend durchlässig ist.

**[0021]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens weist die Flüssigkeit eine Viskosität auf, die kleiner oder gleich der Viskosität von Wasser ist. Dies hat den Vorteil, dass aufgrund der geringen Viskosität der Flüssigkeit eine gleichmäßige Verteilung des Wassers zwischen dem Dünnschichtmaterial, wie z.B. der Folie, und dem Träger erfolgt. Dadurch wird bei der Folie eine ähnlich hohe Planarität erzeugt wie beim Träger.

**[0022]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens enthält die Flüssigkeit Wasser.

**[0023]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens besteht die Flüssigkeit aus Wasser. Dies hat den Vorteil, dass die Fixierung mit Wasser es ermöglicht auf einfache und kostengünstige Weise Dünnschichtmaterial, wie z.B. Folie, für die Hochdurchsatzmikroskopie zu verwenden. Die Fixierung der Folie mit Wasser bringt weiter den Vorteil mit sich, dass sich die Folie nach der Mikroskopie wieder vom Träger ablösen lässt. Die Zusammensetzung des Wassers ermöglicht eine rückstandslos ablösen der Folie vom Träger und dadurch eine besonders einfache Wiederverwendung des Trägers. Die mikroskopierte und wieder vom Träger abgelöste Folie wird anschließend entsorgt. Der Träger wird mit z.B. Luft im System gereinigt und kann anschließend wiederverwendet werden. Die geringe Viskosität von Wasser erlaubt dabei eine gleichmäßige Verteilung des Wassers zwischen dem Dünnschichtmaterial und dem Träger. Wasser bildet dabei aufgrund seiner geringen Viskosität einen sehr gleichmäßigen dünnen Film zwischen dem Träger und dem Dünnschichtmaterial und bindet so das Dünnschichtmaterial temporär an den Träger. Dadurch wird bei der Folie eine ähnlich hohe Planarität erzeugt wie beim Träger. Des Weiteren wird durch die Verwendung von Wasser der Einfluss der Fixierung auf die optischen Eigenschaften sehr gering gehalten bzw. es kommt vorteilhafterweise zu keiner Veränderung der optischen Eigenschaften durch die Fixierung. Nach Beendigung des Mikroskopiervorgangs lässt sich das Dünnschichtmaterial wieder vom Träger ablösen. Zur Wiederverwendung des Trägers muss dieser dann vorzugsweise nur noch getrocknet werden und kann anschließend wiederverwendet werden. Die Zusammensetzung des Wassers ermöglicht dabei ein rückstandslos ablösen des Dünnschichtmaterials vom Träger.

**[0024]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens beträgt die auf die plane Oberfläche des Trägerglases aufgebrachte Flüssigkeitsmenge 3.7 bis 11 Nano Liter pro mm<sup>2</sup>, bevorzugt 4.8 bis 9.6 Nano Liter pro mm<sup>2</sup>, besonders bevorzugt 5.3 Nano Liter pro mm<sup>2</sup>.

**[0025]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens ist das Trägerglas im sichtbaren Spektralbereich transparent.

**[0026]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens wird das Dünnschichtmaterial mit einem zweiten Dünnschichtmaterial, z.B. einer zweiten Folie, abgedeckt, wobei die Dicke des zweiten Dünnschichtmaterials bzw. der zweiten Folie bevorzugt 0.1 bis 0.17 mm beträgt. Dies hat den Vorteil, dass die zweite Folie als Deckglas dient. In der Hämatologie verwendet man in der Regel keine Deckgläser, es gibt jedoch andere Anwendungen bei denen eine Verwendung von eingedeckelten Proben vorteilhaft ist. Häufig ist es auch aufgrund der technischen Gegebenheiten des verwendeten Mikroskops nicht möglich eine uneingedeckelte Probe zu mikroskopieren.

**[0027]** In einer weiteren vorteilhaften Ausgestaltung

des erfindungsgemäßen Verfahrens umfasst die Probe eine menschliche und/oder tierische Körperflüssigkeit, bevorzugt Blut. Bevorzugt enthält die Probe Blutzellen.

**[0028]** Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Verfahrens in einem automatischen Analyzer, wobei der Analyzer bevorzugt eine Vorrichtung zum Abheben des Dünnschichtmaterials, z.B. der Folie, vom Trägerglas umfasst.

**[0029]** Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Verfahrens in einem automatischen Analyzer, wobei der Analyzer bevorzugt eine Vorrichtung zum Reinigen und Trocknen der Trägergläser umfasst.

**[0030]** Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Verfahrens in einem automatischen Analyzer, wobei der Analyzer bevorzugt ein Magazin zur Lagerung der Trägergläser und/oder des Dünnschichtmaterials umfasst.

**[0031]** Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Verfahrens in einem automatischen Analyzer, wobei der Analyzer bevorzugt eine Vorrichtung zur Markierung und/oder Kennzeichnung der Trägergläser umfasst.

**[0032]** Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung eines erfindungsgemäßen Verfahrens in einem automatischen Analyzer, wobei der Analyzer bevorzugt eine Vorrichtung zur Erkennung und/oder Wiedererkennung defekter Trägergläser umfasst.

**[0033]** Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein automatischer Analyzer umfassend Mittel zur automatischen Ausführung eines erfindungsgemäßen Verfahrens, wobei bevorzugt die Mittel eine Steuereinrichtung umfassen, die so konfiguriert ist, dass sie eine automatische Ausführung eines erfindungsgemäßen Verfahrens steuern kann.

**[0034]** Bevorzugt handelt es sich bei dem erfindungsgemäßen Analysator um einen automatischen Analysator, besonders bevorzugt um einen teilautomatischen oder vollautomatischen Hämatologie-Analysator. Bevorzugt umfasst das Mikroskop eine oder mehrere Kameras. Bevorzugt umfasst die Kamera ein digitales Aufzeichnungsgerät, das zum Aufnehmen des im Mikroskop abgebildeten Lichtfelds ausgebildet ist. Bevorzugt umfasst das digitale Aufzeichnungsgerät einen charge-coupled device (CCD) Chip oder mehrere CCD Chips. Besonders bevorzugt basiert das digitale Aufzeichnungsgerät auf einer Complementary Metal-Oxide-Semiconductor (CMOS) Technik und/oder umfasst einen CMOS Chip.

**[0035]** Die Erfindung basiert auf einem optischen Mikroskop, das beispielweise mit Vorrichtungen für Differential Interferenzkontrast ausgestattet ist. Solche Mikroskope können dabei in Bezug auf die Aufspaltung auf die Anforderungen der Hämatologie angepasst werden. Diese Anpassung erfolgt im Wesentlichen durch eine gezielte Wahl des Strahlversatzes auf dem Strahlweg durch das Messobjekt. Bei dem Messobjekt handelt es sich beispielsweise um eine ausgestrichene Blutprobe.

**[0036]** Die Erfindung wird anhand der beigefügten

Zeichnung noch einmal durch ein konkretes Ausführungsbeispiel näher erläutert. Das gezeigte Beispiel stellt eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung dar. Es zeigt:

FIG 1 eine schematische Darstellung des Ablaufs eines Verfahrens zur Fixierung eines Dünnschichtmaterials auf einer planen Oberfläche eines Trägerglases,

FIG 2 einen automatischen Analyzer umfassend Mittel zur automatischen Ausführung eines Verfahrens zur Fixierung eines Dünnschichtmaterials auf einer planen Oberfläche eines Trägerglases.

**[0037]** Das in FIG 1 schematisch dargestellte Verfahren dient der Fixierung eines Dünnschichtmaterials auf einer planen Oberfläche eines Trägerglases für eine Mikroskopvorrichtung mittels einer Flüssigkeit. Das Verfahren umfassend die folgenden Schritte. Zunächst wird eine Flüssigkeitsmenge auf die plane Oberfläche des Trägerglases aufgebracht (1). Weiter wird das Dünnschichtmaterial auf die teilweise oder vollständig mit Flüssigkeit benetzte Oberfläche des Trägerglases aufgebracht (2). Weiter wird eine mikroskopisch zu untersuchende Probe auf die der mit Flüssigkeit benetzten Oberfläche des Trägerglases (16) abgewandten Oberfläche des Dünnschichtmaterials aufgebracht. Hierbei ist die der mit Flüssigkeit benetzten Oberfläche des Trägerglases (16) abgewandte Oberfläche des Dünnschichtmaterials (18) hydrophil. Weiter wird die auf der Oberfläche des Dünnschichtmaterials (18) aufgebrachte Probe mikroskopiert durch Aufnahme von mindestens einem mikroskopischen Bild der Probe. Anschließend wird das Dünnschichtmaterial (18) mit der aufgebrachten Probe von dem Trägerglas (16) entfernt und die mit Flüssigkeit benetzte Oberfläche des Trägerglases (16) gereinigt und getrocknet, wobei die Trocknung bevorzugt mit Luft erfolgt. Anschließend wird das Trägerglas (16) wiederverwendet in einem weiteren Durchlauf des Verfahrens.

**[0038]** Der in FIG 2 gezeigte automatische Analyzer (11) umfasst Mittel zur automatischen Ausführung des in FIG 1 erläuterten Verfahrens. Die Mittel zur automatischen Ausführung des Verfahrens umfassen eine Steuereinrichtung, die so konfiguriert ist, dass sie eine automatische Ausführung des Verfahrens steuern kann.

**[0039]** Der Analyzer (11) ist ausgestaltet zum Analysieren von Blutzellen (12) in einer Probe und umfasst ein optisches Mikroskop (10) umfassend eine Lichtquelle (13) zum Beleuchten einer Probe und eine Sammellinse zum Sammeln und Fokussieren von Lichtstrahlen (14), die von der beleuchteten Probe ausgehen, eine mit dem Mikroskop (10) verbundene Kamera (15), einen automatischen Pipettor zum pipettieren von Flüssigkeiten sowie einen automatischen Transferarm zum transportieren des Dünnschichtmaterials. Bei der Probe handelt es sich um eine Blutprobe, die Blutzellen (12) enthält.

**[0040]** Zunächst wird auf das Trägerglas (16) mittels des Pipettors Wasser pipettiert, so dass sich ein Flüssigkeitsfilm (17) auf dem Trägerglas (16) ausbildet. Dann wird ein Dünnschichtmaterial (18) in Form einer flexiblen Folie mittels des Transferarms auf den Flüssigkeitsfilm (17) aufgebracht. Weiter wird mittels des Pipettors oder einer anderen geeigneten automatischen Vorrichtung die Probe mit Blutzellen (12) auf die hydrophile Oberfläche (19) des Dünnschichtmaterials (18) aufgebracht. Die hydrophile Oberfläche (19) des Dünnschichtmaterials (18) befindet sich dabei auf der Seite des Dünnschichtmaterials (18), welche dem Flüssigkeitsfilm (17) abgewandt ist.

**[0041]** Zur mikroskopischen Abbildung der Probe befindet sich diese somit nach Ausführung des Verfahrens auf der hydrophoben Oberfläche (19) des Dünnschichtmaterials (18). Das Dünnschichtmaterial (18) ist mittels des Flüssigkeitsfilms (17) aus Wasser auf dem Trägerglas (16) fixiert. Das Dünnschichtmaterial ist dadurch parallel zur planen Oberfläche des Trägerglases (16) ausgerichtet.

**[0042]** Nach Durchführung der Mikroskopie der Probe (4) wird mit einer automatischen Vorrichtung zum Abheben des Dünnschichtmaterials (18) das Dünnschichtmaterial (18) vom Trägerglas (16) abgehoben und das Dünnschichtmaterial (18) entfernt (5).

**[0043]** Weiter wird das Trägerglas (16) mittels einer automatischen Vorrichtung zum Reinigen und Trocknen des Trägerglases (18) gereinigt und getrocknet (6).

**[0044]** Das Dünnschichtmaterial (18) und/oder das Trägerglas (16) wird optional jeweils in ein Magazin zu Lagerung von Dünnschichtmaterial (18) beziehungsweise von Trägergläsern (16) automatisch verbracht.

**[0045]** Optional erfolgt mittels einer automatischen Vorrichtung zur Markierung und/oder Kennzeichnung der Trägergläser (16) eine Markierung und/oder Kennzeichnung der Trägergläser (16). Bevorzugt handelt es sich bei der Markierung beziehungsweise Kennzeichnung um eine jeweils eindeutige Kennzeichnung beziehungsweise Markierung.

**[0046]** Optional erfolgt mittels einer automatischen Vorrichtung zur Erkennung und/oder Wiedererkennung defekter Trägergläser (16) eine Erkennung beziehungsweise Wiedererkennung von defekten Trägergläsern (16), die dann z.B. automatisch aussortiert und/oder in einen Abfallbehälter verbracht werden.

Bezugszeichenliste

**[0047]**

- |    |    |                                |
|----|----|--------------------------------|
| 50 | 1  | Aufbringen Flüssigkeitsmenge   |
|    | 2  | Aufbringen Dünnschichtmaterial |
|    | 3  | Aufbringen Probe               |
|    | 4  | Mikroskopie Probe              |
|    | 5  | Entfernen Dünnschichtmaterial  |
| 55 | 6  | Reinigung und Trocknung        |
|    | 7  | Wiederverwendung Trägerglas    |
|    | 10 | Mikroskop                      |
|    | 11 | Analyzer                       |

- 12 Blutzelle
- 13 Lichtquelle
- 14 Lichtstrahlen
- 15 Kamera
- 16 Trägerglas
- 17 Flüssigkeitsfilm
- 18 Dünnsfilmmaterial
- 19 hydrophile Oberfläche

### Patentansprüche

1. Verfahren zur Fixierung eines Dünnsfilmmaterials (17) auf einer planen Oberfläche eines Trägerglases (16) für eine Mikroskopiervorrichtung mittels einer Flüssigkeit, das Verfahren umfassend die folgenden Schritte:
  - Aufbringen einer Flüssigkeitsmenge auf die plane Oberfläche des Trägerglases (16),
  - Aufbringen des Dünnsfilmmaterials (18) auf die wenigstens teilweise, bevorzugt vollständig mit Flüssigkeit benetzten Oberfläche des Trägerglases (16),
  - Aufbringen einer mikroskopisch zu untersuchenden Probe auf die der mit Flüssigkeit benetzte Oberfläche des Trägerglases abgewandten Oberfläche des Dünnsfilmmaterials (18),

wobei die der mit Flüssigkeit benetzten Oberfläche des Trägerglases (16) abgewandte Oberfläche des Dünnsfilmmaterials (18) hydrophil ist.
2. Verfahren nach Anspruch 1, das Verfahren weiter aufweisend den folgenden Schritt:
  - Mikroskopie der auf der Oberfläche des Dünnsfilmmaterials (18) aufgetragenen Probe.
3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, das Verfahren weiter aufweisend den folgenden Schritt:
  - Entfernen des Dünnsfilmmaterials (18) mit der aufgetragenen Probe von dem Trägerglas (16),
  - Reinigung und Trocknung der mit Flüssigkeit benetzten Oberfläche des Trägerglases (16),
  - Wiederverwendung des Trägerglases (16).
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Gesamtdicke des Trägerglases (16) mit aufgetragener Flüssigkeit, Dünnsfilmmaterial (18) und Probe weniger als 1,4 mm beträgt, wobei die Gesamtdicke des Trägerglases (16) mit aufgetragener Flüssigkeit und Dünnsfilmmaterial (18) ohne Probe besonders bevorzugt 1 mm beträgt.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Dünnsfilmmaterial (18) eine biegsame Folie ist.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Flüssigkeit im von der Mikroskopiervorrichtung genutzten Spektralbereich überwiegend transparent ist.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Flüssigkeit eine Viskosität aufweist, die kleiner oder gleich der Viskosität von Wasser ist.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Flüssigkeit Wasser enthält oder aus Wasser besteht.
9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die auf die plane Oberfläche des Trägerglases (16) aufgetragene Flüssigkeitsmenge 3.7 bis 11 Nano Liter pro mm<sup>2</sup> beträgt, bevorzugt 4.8 bis 9.6 Nano Liter pro mm<sup>2</sup>, besonders bevorzugt 5.3 Nano Liter pro mm<sup>2</sup>.
10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Trägerglas (16) im sichtbaren Spektralbereich transparent ist.
11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Trägerglas (16) aus Glas und/oder Kunststoff besteht.
12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Dünnsfilmmaterial (18) mit einem zweiten Dünnsfilmmaterial abgedeckt wird, wobei die Dicke des zweiten Dünnsfilmmaterials bevorzugt 0.1 bis 0.17 mm beträgt.
13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Probe eine menschliche und/oder tierische Körperflüssigkeit, bevorzugt Blut, umfasst.
14. Verwendung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 13 in einer Mikroskopiervorrichtung.
15. Verwendung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 13 in einem automatischen Analyzer (11), wobei der Analyzer bevorzugt eine Mikroskopiervorrichtung umfasst.
16. Automatischer Analyzer (11) umfassend Mittel zur automatischen Ausführung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 13, wobei bevorzugt die Mittel eine Steuereinrichtung umfassen, die so konfiguriert ist, dass sie eine automatische Ausführung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 13 steuern kann.

FIG 1

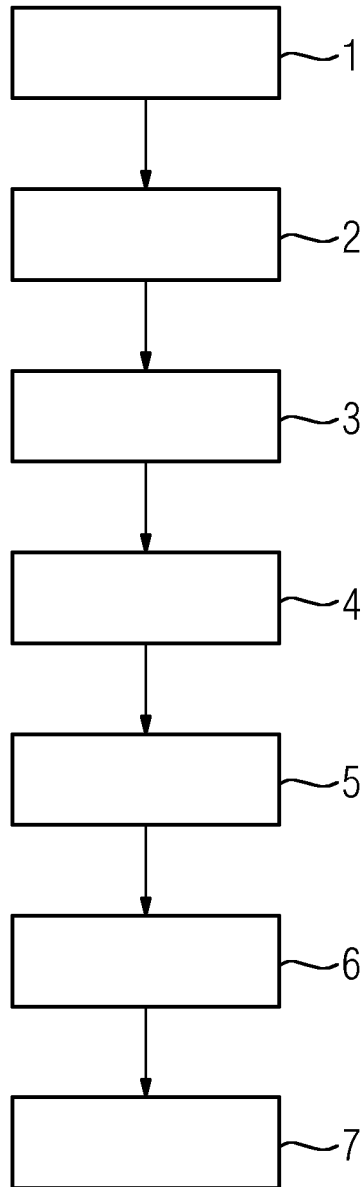
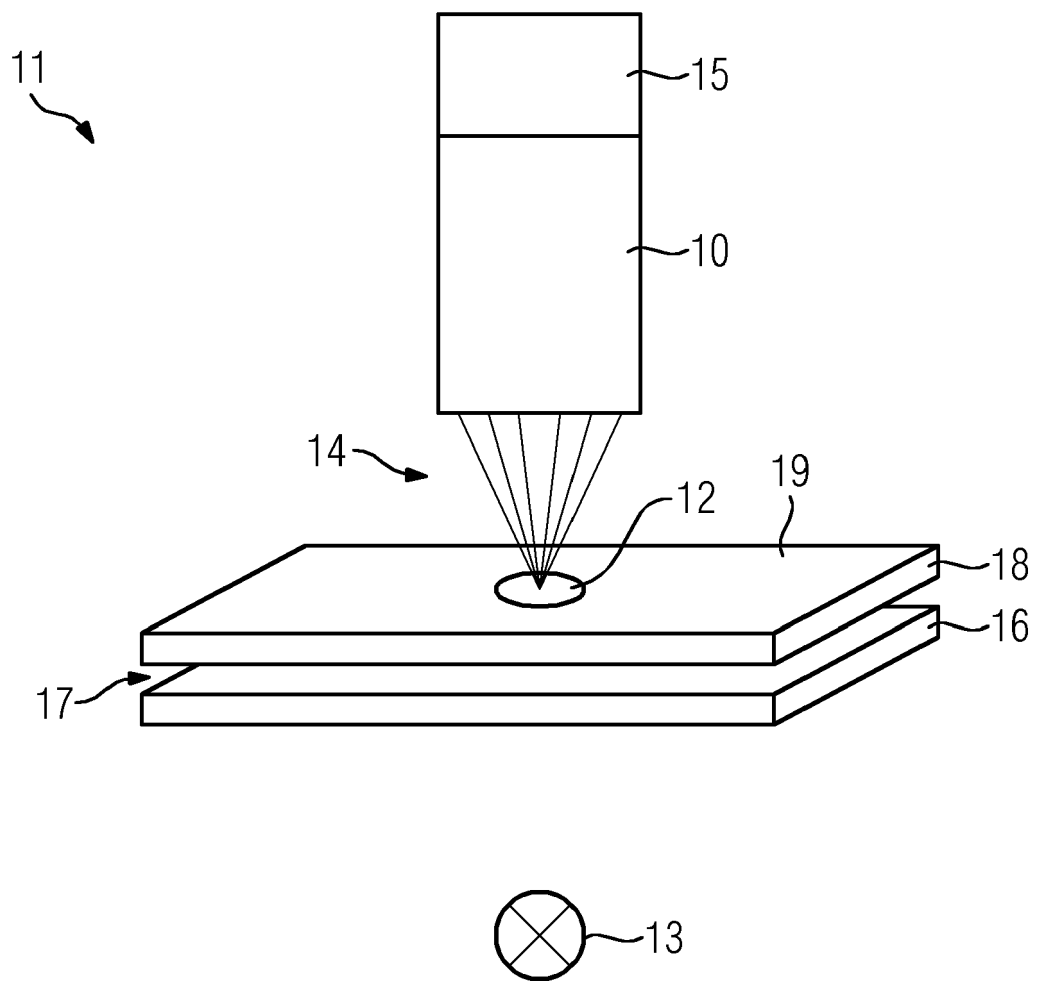


FIG 2





EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung  
EP 18 19 2845

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE  |  |  |   |
|---|--|--|---|
| Kategorie   | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile  | Betrifft Anspruch  | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (IPC)                      |
| X   | US 4 597 982 A (DELAMETER WILLIAM D [US])<br>1. Juli 1986 (1986-07-01)<br>* Spalte 1, Zeile 27 - Zeile 64 *<br>* Spalte 2, Zeile 30 - Spalte 3, Zeile 10 *<br>* Spalte 3, Zeile 28 - Zeile 34 *<br>* Ansprüche 1,3,4,6,12 *  | 1-16   | INV.<br>G01N1/36<br>G01N1/30<br>G02B21/34<br>G01N1/28   |
| X   | US 3 551 023 A (BRACKETT DANIEL W)<br>29. Dezember 1970 (1970-12-29)<br>* Spalte 2, Zeile 10 - Zeile 31 *<br>* Spalte 2, Zeile 58 - Zeile 63 *<br>* Spalte 2, Zeile 67 - Zeile 70 *<br>* Spalte 3, Zeile 7 - Zeile 10 *<br>* Spalte 3, Zeile 18 - Zeile 20 *<br>* Spalte 3, Zeile 53 - Zeile 70 *<br>* Spalte 4, Zeile 20 - Zeile 23 * | 1-16   |   |
| A   | CN 201 444 213 U (FENG XUE)<br>28. April 2010 (2010-04-28)<br>* Zusammenfassung *  | 1-6  | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (IPC)<br>G01N<br>G02B<br>B01L |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt   |  |  |   |
| Recherchenort<br>Den Haag   |  | Abschlußdatum der Recherche<br>6. März 2019  | Prüfer<br>Lefortier, Stéphanie                          |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE<br>X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet<br>Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie<br>A : technologischer Hintergrund<br>O : nichtschriftliche Offenbarung<br>P : Zwischenliteratur |  | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze<br>E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist<br>D : in der Anmeldung angeführtes Dokument<br>L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument<br>& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument |   |

EPO FORM 1503 03.82 (P04C03)

**ANHANG ZUM EUROPÄISCHEN RECHERCHENBERICHT  
 ÜBER DIE EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 18 19 2845

5 In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten europäischen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.  
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am  
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

06-03-2019

10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55

| Im Recherchenbericht<br>angeführtes Patentdokument |   | Datum der<br>Veröffentlichung | Mitglied(er) der<br>Patentfamilie | Datum der<br>Veröffentlichung |
|--|---|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| US 4597982   | A | 01-07-1986                    | KEINE                             |                               |
| -----  |   |                               |                                   |                               |
| US 3551023   | A | 29-12-1970                    | GB 1275543 A                      | 24-05-1972                    |
|  |   |                               | JP S507497 B1                     | 26-03-1975                    |
|  |   |                               | US 3551023 A                      | 29-12-1970                    |
| -----  |   |                               |                                   |                               |
| CN 201444213                                       | U | 28-04-2010                    | KEINE                             |                               |
| -----  |   |                               |                                   |                               |

EPO FORM P0461

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82